

不同培养条件对南烛离体叶片不定芽再生的影响

张晓娜¹, 韦继光¹, 姜燕琴¹, 刘梦华¹, 於虹^{1,①}, 王天寿²

[1. 江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014; 2. 南京紫玉蓝莓科技有限公司, 江苏 南京 211151]

摘要:以南烛(*Vaccinium bracteatum* Thunb.)组培苗离体叶片为实验材料,研究了不同培养条件对其不定芽再生状况的影响并筛选出最适培养条件。结果表明:基本培养基类型、生长调节剂种类及质量浓度、琼脂和蔗糖质量浓度、外植体类型、外植体接种方式和暗培养时间均对南烛离体叶片不定芽的出芽时间和再生率、外植体干枯率以及不定芽的生长状况有明显影响。南烛离体叶片不定芽再生的最佳培养条件为:以中脉横切2次的叶片为外植体,以近轴面面向培养基的方式接种;以1/2MS-1/2WPM为基本培养基,添加7.5 g·L⁻¹琼脂、25.0 g·L⁻¹蔗糖、0.5 mg·L⁻¹ TDZ、5.0 mg·L⁻¹ 2ip或4.0 mg·L⁻¹ ZT,暗培养21 d后转至光照度2 000 lx、光照时间16 h·d⁻¹的条件下培养。

关键词: 南烛; 离体叶片; 不定芽; 再生率; 干枯率; 培养条件

中图分类号: Q943.1; Q949.772.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)02-0056-05

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.02.08

Effects of different culture conditions on adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *Vaccinium bracteatum* ZHANG Xiaona¹, WEI Jiguang¹, JIANG Yanqin¹, LIU Menghua¹, YU Hong^{1,①}, WANG Tianshou² (1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Nanjing Purple Jade Blueberry Technology Co., Ltd., Nanjing 211151, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(2): 56-60

Abstract: Taking leaf *in vitro* of tissue culture seedling of *Vaccinium bracteatum* Thunb. as experimental materials, effects of different culture conditions on regeneration status of adventitious bud were studied, and the optimal culture condition was screened. The results show that basic medium type, type and mass concentration of growth regulator, mass concentrations of agar and sucrose, explant type, inoculating mode of explant and dark culture time have obvious effects on sprouting time and regeneration rate of adventitious bud, withering rate of explant and growth status of adventitious bud of leaf *in vitro* of *V. bracteatum*. The optimal culture condition for adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *V. bracteatum* is as follow: taking leaf with midrib cut transversely for two times as explant, inoculating with its adaxial side facing on medium, taking 1/2MS-1/2WPM as basic medium and adding 7.5 g·L⁻¹ agar, 25.0 g·L⁻¹ sucrose, 0.5 mg·L⁻¹ TDZ, and 5.0 mg·L⁻¹ 2ip or 4.0 mg·L⁻¹ ZT, dark culture for 21 d and then transferring to culture in the condition of illumination intensity 2 000 lx and illumination time 16 h·d⁻¹.

Key words: *Vaccinium bracteatum* Thunb.; leaf *in vitro*; adventitious bud; regeneration rate; withering rate; culture condition

南烛(*Vaccinium bracteatum* Thunb.)又名乌饭树,是杜鹃花科(Ericaceae)越桔属(*Vaccinium* Linn.)植物。南烛的枝叶和果实营养丰富并且具有一定的药

用功效^{[1],[2]},因而,该种类是中国民间应用最多、应用历史悠久的越桔属野生植物^[3]。南烛在野生状态下呈零星分布状态且个体数量较少,加之人为干扰,

收稿日期: 2014-10-16

基金项目: 国家农业部公益性行业(农业)科研专项(201103037); 江苏省农业科技自主创新项目[CX(11)1011]

作者简介: 张晓娜(1988—),女,山东肥城人,硕士研究生,主要从事小浆果类植物生物技术方面的研究。

①通信作者 E-mail: njyuhong@vip.sina.com

其野生分布数量日趋减少。南烛种子繁殖成苗慢,尽管也可产生极少数实生苗,但不足以维持其种群规模^{[1]4}。扦插繁殖是南烛常用的繁殖方法^{[1]12-25},但受母本数量的限制并且增殖数量少;而利用植物组织培养进行快速繁殖则不受母本数量的制约,可以在短时间内得到大量的组培苗。目前,对南烛叶片和果实的营养成分、化学成分、生态环境、药用价值及扦插生根繁殖的相关研究较多^[4-11],而有关南烛组培快繁技术的研究报道尚不多见^[12],南烛组培繁殖技术体系也需进一步完善。

作者以南烛组培苗的离体叶片为试材,借鉴一些果树^[13-17]和蓝浆果(*Vaccinium spp.*)^[18-23]的快繁系统,研究不同培养条件对南烛离体叶片不定芽再生的影响,以期建立高效、稳定的南烛离体叶片再生体系,为该种的快速繁殖及种质资源保护和利用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试南烛组培苗保存于江苏省·中国科学院植物研究所蓝浆果组培室,以培养45 d、叶片生长最旺盛且再生能力强的组培苗叶片为外植体。

1.2 方法

1.2.1 基本培养条件 用解剖刀在叶片中脉处横切2刀,以近轴面面向培养基的方式接种;基本培养基为1/2MS-1/2WPM,培养基中包含质量浓度4 mg·L⁻¹ CPPU、质量浓度25.0 g·L⁻¹蔗糖以及质量浓度7.5 g·L⁻¹琼脂,pH 5.3;于温度(23±2)℃条件下暗培养2 d后转到温度(23±2)℃、光照度2 000 lx、光照时间16 h·d⁻¹的条件下培养。

1.2.2 不同培养条件设置及不定芽再生状况观察 以上述基本培养条件为基础,分别改变其中的基本培养基类型、琼脂质量浓度、蔗糖质量浓度、生长调节剂种类及质量浓度、外植体类型、外植体接种方式和暗培养时间,对影响南烛离体叶片不定芽再生的培养因子进行研究。基本培养基类型分别设置为MS、WPM和1/2MS-1/2WPM培养基;琼脂质量浓度分别设置为5.5、6.5和7.5 g·L⁻¹;蔗糖质量浓度分别设置为5.0、15.0、25.0和35.0 g·L⁻¹;植物生长调节剂类型及质量浓度分别设置为2.0、4.0和6.0 mg·L⁻¹ CPPU, 0.5、1.0和1.5 mg·L⁻¹ TDZ, 2.0、4.0和

6.0 mg·L⁻¹ ZT, 5.0、10.0和15.0 mg·L⁻¹ 2ip, 0.5 mg·L⁻¹ TDZ-4.0 mg·L⁻¹ CPPU, 0.5 mg·L⁻¹ TDZ-4.0 mg·L⁻¹ ZT, 0.5 mg·L⁻¹ TDZ-5.0 mg·L⁻¹ 2ip, 共15个处理;外植体类型分别设置为全叶、中脉横切2刀(不切断)的叶片、叶尖和叶基部;外植体接种方式分别设置为叶片远轴面面向培养基和叶片近轴面面向培养基;暗培养时间分别设置为0、7、14、21和28 d。

每处理接种144个外植体,各3次重复。每天观察和统计不定芽的出芽时间,并观察不定芽的生长状况,60 d后,按公式“不定芽再生率=(再生不定芽的外植体数/接种的外植体数)×100%”计算不定芽再生率;外植体1/2以上面积干枯死亡且不出芽视为干枯,按公式“外植体干枯率=(干枯的外植体数/接种的外植体数)×100%”计算外植体干枯率。

1.3 数据处理

采用EXCEL 2003软件对实验数据进行计算,采用SPSS 16.0统计分析软件进行方差分析。

2 结果和分析

2.1 培养基对南烛离体叶片不定芽再生的影响

培养基类型及培养基中琼脂和蔗糖的质量浓度对南烛离体叶片不定芽再生的影响见表1。结果表明:不同基本培养基类型、培养基中琼脂和蔗糖的不同质量浓度均对不定芽的出芽时间、不定芽再生率和外植体干枯率以及不定芽的生长状况有明显影响。

采用不同类型的基本培养基,南烛离体叶片不定芽出芽时间均为40 d,但不同类型基本培养基间不定芽再生率和外植体干枯率均有显著差异。其中,在1/2MS-1/2WPM基本培养基上,不定芽再生率最高、外植体干枯率居中,不定芽数量多且芽大,并呈深绿色;在WPM基本培养基上,不定芽再生率居中、外植体干枯率最低,不定芽数量少且芽小,并呈黄绿色;在MS基本培养基上,不定芽再生率最低、外植体干枯率最高,不定芽数量少且芽小,呈现深绿色。

培养基中琼脂质量浓度在5.5~7.5 g·L⁻¹范围内,随质量浓度提高,南烛离体叶片不定芽出芽时间推迟,不定芽再生率显著下降,外植体干枯率呈上升趋势但无显著差异。琼脂质量浓度为5.5 g·L⁻¹,外植体上愈伤组织多、不定芽数量多且呈深绿色,但不定芽小且轻微玻璃化;琼脂质量浓度为6.5 g·L⁻¹,外

植体上愈伤组织少、不定芽数量少且呈深绿色;琼脂质量浓度为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体上愈伤组织和不定芽数量均中等且呈深绿色,不定芽大且生长相对健壮。

培养基中蔗糖质量浓度在 $5.0 \sim 35.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,南烛离体叶片不定芽出芽时间均为 40 d,但不定

表1 基本培养基类型以及培养基中琼脂和蔗糖质量浓度对南烛离体叶片不定芽再生的影响¹⁾

Table 1 Effects of basic medium type, and mass concentrations of agar and sucrose in medium on adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *Vaccinium bracteatum* Thunb.¹⁾

处理 Treatment	St/d	Ra/%	Rw/%
基本培养基类型 Basic medium type			
MS	40	1.4c	82.6a
WPM	40	15.9b	2.3c
1/2MS-1/2WPM	40	23.6a	27.8b
琼脂质量浓度 Mass concentration of agar			
$5.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	35	69.2a	6.4a
$6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	38	45.2b	11.9a
$7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	40	42.2c	16.6a
蔗糖质量浓度 Mass concentration of sucrose			
$5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	40	26.9b	2.6b
$15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	40	37.2b	3.8b
$25.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	40	52.0a	4.2b
$35.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	40	57.8a	15.6a

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一类处理的不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups of the same type of treatment ($P < 0.05$). St: 不定芽出芽时间 Sprouting time of adventitious bud; Ra: 不定芽再生率 Regeneration rate of adventitious bud; Rw: 外植体干枯率 Withering rate of explant.

表2 培养基中的植物生长调节剂对南烛离体叶片不定芽再生的影响¹⁾

Table 2 Effect of plant growth regulator in medium on adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *Vaccinium bracteatum* Thunb.¹⁾

处理 Treatment	不定芽出芽时间/d ²⁾ Sprouting time of adventitious bud ²⁾	不定芽再生率/% Regeneration rate of adventitious bud	外植体干枯率/% Withering rate of explant
$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU	40	25.0c	30.0e
$4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU	40	23.6c	20.8e
$6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU	40	0.0d	62.5b
$0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ	40	31.9b	52.3d
$1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ	40	25.7c	60.8bc
$1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ	40	22.2c	59.8c
$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT	-	0.0d	100.0a
$4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT	-	0.0d	100.0a
$6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT	-	0.0d	100.0a
$5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip	-	0.0d	100.0a
$10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip	-	0.0d	100.0a
$15.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip	-	0.0d	100.0a
$0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ- $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU	51	4.4d	0.1g
$0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ- $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT	32	58.3a	14.6f
$0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ- $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip	28	59.5a	13.1f

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups ($P < 0.05$).

²⁾ -: 未萌芽 No sprouting.

芽再生率和外植体干枯率随蔗糖质量浓度提高均逐渐增大。蔗糖质量浓度为 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体上愈伤组织少且呈黄白色,不定芽小且数量少;蔗糖质量浓度为 $15.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体上愈伤组织量中等且呈黄绿色,不定芽小且数量少;蔗糖质量浓度为 $25.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体上愈伤组织量中等且呈深绿色,不定芽大且数量中等;蔗糖质量浓度达 $35.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,外植体上愈伤组织多且呈深绿色,不定芽大且数量多,但部分不定芽轻微玻璃化。

2.2 植物生长调节剂对南烛离体叶片不定芽再生的影响

培养基中添加不同种类及质量浓度的植物生长调节剂对南烛离体叶片不定芽再生的影响见表2。

由表2可见:在添加不同质量浓度 ZT 的培养基上均没有诱导出愈伤组织和不定芽,在添加不同质量浓度 2ip 的培养基上仅诱导出愈伤组织但无不定芽产生。在添加质量浓度 $2.0 \sim 6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上,不定芽的出芽时间均为 40 d,不定芽数量较少但芽较大、节间不伸长;随 CPPU 质量浓度的提高,不定芽再生率显著降低、外植体干枯率显著增大。在添加质量浓度 $0.5 \sim 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的培养基上,不定芽出芽时间均为 40 d,不定芽数量多但芽小、节间不伸长;随 TDZ 质量浓度的提高,不定芽再生率显著降低、外植体干枯率明显增大。

在添加质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip 或质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 的培养基上,不定芽的出芽时间分别为 28 和 32 d,且在这 2 种培养基上不定芽数量多,不定芽大且节间伸长,外植体干枯率也较低;不定芽再生率则显著高于其他处理,分别达到 59.5% 和 58.3%。而在添加质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上不定芽出芽时间最长(51 d),且不定芽数量少,不定芽大且节间不伸长;不定芽再生率处于最低水平,仅为 4.4%;但外植体干枯率最低,仅为 0.1%。

2.3 外植体类型及外植体接种方式对南烛离体叶片不定芽再生的影响

外植体类型及外植体接种方式对南烛离体叶片不定芽再生的影响见表 3。

由表 3 可见:以叶尖为外植体时,不定芽的出芽时间为 46 d;其他外植体的出芽时间均为 40 d。以全叶为外植体,不定芽再生率居中、外植体干枯率最低,愈伤组织和不定芽数量少且呈黄绿色,大部分不定芽和愈伤组织从叶柄处长出。以叶尖和叶基部为外植体,不定芽再生率较低、外植体干枯率较高,不定芽数量较少且呈深绿色。以中脉处横切 2 次的叶片为外植体,不定芽再生率最高、外植体干枯率居中,愈伤组织和不定芽数量均较多且呈深绿色,叶柄和切口处均可长出不定芽和愈伤组织。

表 3 外植体的类型和接种方式对南烛离体叶片不定芽再生的影响¹⁾
Table 3 Effects of type and inoculating mode of explant on adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *Vaccinium bracteatum* Thunb.¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	St/d	Ra/%	Rw/%
外植体类型 Explant type			
E1	40	15.2b	15.9b
E2	40	23.6a	20.8b
E3	46	5.3c	56.8a
E4	40	12.3b	63.2a
外植体接种方式 Explant inoculating mode			
M1	53	0.8b	5.0a
M2	40	18.2a	2.3b

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一类处理的不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups of the same type of treatment ($P < 0.05$). St: 不定芽出芽时间 Sprouting time of adventitious bud; Ra: 不定芽再生率 Regeneration rate of adventitious bud; Rw: 外植体干枯率 Withering rate of explant.

²⁾ E1: 全叶 Whole leaf; E2: 中脉横切 2 次的叶片 Leaf with midrib cut transversely for two times; E3: 叶尖 Leaf tip; E4: 叶基部 Leaf base; M1: 叶片远轴面面向培养基 Leaf abaxial side facing on medium; M2: 叶片近轴面面向培养基 Leaf adaxial side facing on medium.

由表 3 还可见:以叶片近轴面面向培养基的方式接种,出芽时间早(40 d),外植体干枯率低,愈伤组织数量虽较少但不定芽再生率高,不定芽数量少且呈黄绿色。以叶片远轴面面向培养基的方式接种,叶片卷曲且出芽时间推迟(53 d),外植体干枯率高,愈伤组织数量虽较多但不定芽再生率低,不定芽呈黄绿色。

2.4 暗培养时间对南烛离体叶片不定芽再生的影响

暗培养时间对南烛离体叶片不定芽再生的影响见表 4。结果表明:暗培养 0~28 d,不定芽出芽时间均为 40 d。随暗培养时间延长,不定芽再生率呈先升后降的趋势,外植体干枯率呈逐渐下降的趋势。暗培养 0 和 7 d,不定芽数量少且呈深绿色;暗培养 14 和 21 d,不定芽大且数量多,呈深绿色;暗培养 28 d,不定芽数量略减少并呈深绿色。

表 4 暗培养时间对南烛离体叶片不定芽再生的影响¹⁾
Table 4 Effect of dark culture time on adventitious bud regeneration of leaf *in vitro* of *Vaccinium bracteatum* Thunb.¹⁾

暗培养时间/d Dark culture time	St/d	Ra/%	Rw/%
0	40	16.7b	65.0a
7	40	21.0b	60.5a
14	40	41.3a	35.7b
21	40	46.8a	30.2b
28	40	40.8a	21.7b

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示不同处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups ($P < 0.05$). St: 不定芽出芽时间 Sprouting time of adventitious bud; Ra: 不定芽再生率 Regeneration rate of adventitious bud; Rw: 外植体干枯率 Withering rate of explant.

3 讨论和结论

上述研究结果表明:南烛离体叶片不定芽诱导的最适培养基为 1/2MS-1/2WPM 培养基,在此培养基上不定芽再生率最高、不定芽质量最好;MS 培养基的无机盐浓度高、渗透压较大,使外植体干枯率增加、不定芽再生率降低;而采用 WPM 培养基,由于无机盐浓度低,使外植体不能获得足够的矿质营养,导致不定芽再生率降低。在琼脂质量浓度为 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上,南烛离体叶片不定芽的综合质量最好;琼脂浓度过低使不定芽有轻微的玻璃化现象;琼脂浓度过高则使培养基含水量降低,导致外植体干枯率增大,这一结果与胡淑英等^[24]的研究结果一致。培养基中蔗糖质量浓度低则碳源和能量不足,导致南烛离体叶片

不定芽小且数量少;蔗糖质量浓度高则渗透压大,导致外植体干枯率较高、不定芽呈玻璃化;蔗糖质量浓度为 $25.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时不定芽质量最好且数量也较多。

低浓度 TDZ 和 CPPU 可促使蓝浆果离体器官产生大量不定芽^[25]。本研究中,TDZ 和 CPPU 均能诱导南烛离体叶片产生不定芽,其中,添加 TDZ 有利于不定芽数量增殖,而添加 CPPU 对不定芽的生长有利,但培养基中添加质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 则导致不定芽再生率降低;而在培养基中添加质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip 或质量浓度 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 和质量浓度 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT,可以提高不定芽的再生率及质量,且不定芽节间伸长,易于转接。

以中脉横切2次的南烛离体叶片为外植体,对不定芽再生有利,这与叶片适度机械损伤有利于愈伤组织和不定芽诱导有关。采用远轴面面向培养基的方式接种,不定芽再生率低,可能与离体叶片产生的愈伤组织过多导致叶片卷曲、外植体干枯率增大有关;而采用叶片近轴面面向培养基的方式接种,产生的愈伤组织数量适中且叶片微卷、外植体干枯率降低而不定芽再生率增大。此外,暗培养时间对南烛离体叶片不定芽再生也有一定的影响,暗培养时间过长则愈伤组织生长旺盛,不利于不定芽的诱导。

综合上述实验结果,筛选出的南烛离体叶片不定芽再生的最适培养条件为:以中脉横切2次的叶片为外植体,以近轴面面向培养基的方式接种,以 $1/2\text{MS}-1/2\text{WPM}$ 为基本培养基,添加质量浓度 $25.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ、 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2ip 或 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT,暗培养21 d后转至光照度 2000 lx 、光照时间 $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下培养。

参考文献:

- [1] 谢远程. 乌饭树(*Vaccinium bracteatum*)生态学特性及其无性繁殖技术研究[D]. 南京:南京林业大学森林资源与环境学院, 2005.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第6卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1998: 45-47.
- [3] 顾 烟,贺善安. 蓝浆果与蔓越桔[M]. 北京:中国农业出版社, 2001: 401-404.
- [4] 谢远程,周晓琴. 乌饭树浆果营养成分分析及其开发[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(3): 28, 35.
- [5] 肖珊美. 开发乌饭树叶及果实的经济价值[J]. 中国林副特产, 2001(4): 36.
- [6] 魏国华,许新德,邵 斌,等. 天然食品防腐剂——乌饭树叶提取物[J]. 中国食品添加剂, 2008(6): 143-145.
- [7] 顾关云,蒋 昱. 黑果越桔的化学成分和药理活性研究进展[J]. 现代药物与临床, 2010, 25(6): 401-410, 429.
- [8] 陈重明,张 宁,王 鸣. 乌饭树(*Vaccinium bracteatum* Thunb.)的民族植物学[J]. 植物资源与环境, 1998, 7(1): 45-48.
- [9] 李增亮,张 琳,田景奎,等. 乌饭树叶的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2087-2089.
- [10] 周长东. 乌饭树组织培养移栽技术研究[J]. 山西林业科技, 2007(3): 7-10.
- [11] 谢远程,徐志豪,周晓琴. 乌饭树扦插繁殖技术研究[J]. 林业实用技术, 2006(7): 5-7.
- [12] HAN K Y, HU H K, LI S F, et al. Micropropagation of *Vaccinium bracteatum* Thunb.[J]. African Journal of Biotechnology, 2013, 12: 695-701.
- [13] 吴雅琴,赵艳华,李春敏. 昌红苹果离体叶片不定芽的诱导及植株再生[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(1): 32-35.
- [14] 师校欣,杜国强,高 仪,等. 苹果离体叶片高效再生不定芽技术研究[J]. 果树科学, 1999, 16(4): 255-258.
- [15] 师校欣,杜国强,高 仪,等. 黑暗培养对苹果组培快繁及叶片再生的影响[J]. 河北农业学报, 2004, 27(4): 18-21.
- [16] 孙 俊. 南果梨叶片离体培养的高效再生体系[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 44-46.
- [17] 孙清荣,刘庆忠,赵红军,等. 影响梨叶片高频不定梢再生因素的研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 99-100, 107.
- [18] 马怀宇,李亚东,刘庆忠. 高丛越橘离体叶片再生植株研究初报[J]. 东北农业大学学报, 2004, 32(5): 212-215.
- [19] 陶建敏,耿其芳,庄智敏,等. 蓝浆果叶片高效再生体系的建立[J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 610-614.
- [20] 廉家盛,朴炫春,廉美兰,等. 培养种类、玉米素浓度及 pH 值对蓝莓“美登”组培增殖生长的影响[J]. 延边大学农学报, 2010, 32(4): 269-272.
- [21] 邢瑞丹,刘庆忠,陈 新,等. 两个蓝莓品种离体叶片不定芽再生体系的建立[J]. 山东农业科学, 2009(5): 8-11.
- [22] 张祝丽,姜燕琴,於 虹. 不同培养条件对蓝浆果离体叶片不定芽再生的影响[J]. 北方园艺, 2013(22): 104-107.
- [23] CAO X, HAMMERSCHLAG F A. Improved shoot organogenesis from leaf explants of highbush blueberry[J]. HortScience, 2000, 35: 945-947.
- [24] 胡淑英,张春红,王小敏,等. 滨梅组培苗玻璃化成因及其克服技术研究[J]. 中国南方果树, 2013, 42(5): 37-41.
- [25] 张祝丽,於 虹,刘梦华,等. 细胞分裂素种类及添加量对蓝浆果叶片离体再生的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(1): 70-75.

(责任编辑:张明霞)